

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Städt. Krankenhaus Westend
Direktor: Prof. Dr. med. Max Schwab

Nachweis zirkulierender Insulin
-Antikörper beim Diabetiker mit der pas-
siven cutanen Anaphylaxie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans Weber
aus Magdeburg

1967

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Städt. Krankenhaus Westend
Direktor: Prof. Dr. med. Max Schwab

Nachweis zirkulierender Insulin
-Antikörper beim Diabetiker mit der pas-
siven cutanen Anaphylaxie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans Weber
aus Magdeburg

Dekan: Professor Dr.med. Hans Wolfgang S p i e e r

Referent: Priv.Do. Dr.med. Hermann M i c h e l

Korreferent: Professor Dr.med., Dr.sc.h.c., Dr.med.vet.h.c.,
Dr.med.h.c. Hans Freiherr v. K r e s

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am : 23.10.1967



Inhaltsverzeichnis:

	<u>Seite:</u>
I. Die Anaphylaxie	3 - 4
a. Die aktive Anaphylaxie	4
b. Die passive Anaphylaxie	5 - 8
c. Die lokale Anaphylaxie des passiv sensibilisierten Tieres	8 - 9
d. Die experimentelle Meer- schweinchenanaphylaxie	9 - 10
e. Die passive cutane Anaphylaxie	10 - 13
II. Die Bedeutung der passiven cutanen Anaphylaxie zum Antikörpernachweis gegen Hormone und chemische Verbin- dungen	14
III. Eigene Versuche	15
a. Durchführung	15
b. Technik	16 - 17
IV. Kasuistik ausgewählter Fälle	18 - 23
V. Ergebnisse	24 - 27
VI. Diskussion	28
VII. Zusammenfassung	29
VIII. Graphische Darstellungen	30 - 49
IX. Schrifttum	50 - 53
X. Lebenslauf	55

Nachweis zirkulierender Insulin - Antikörper beim Diabetiker mit der passiven cutanen Anaphylaxie.

I. Die Anaphylaxie

Ehe P o r t i e r und R i c h e t 1902 auf einer Reise ihre bereits klassisch gewordenen Versuche mit wässrigen Aktimenextrakten an Hunden durchführten und nach der Rückkehr nach Frankreich zuhause fortsetzten, wurden analoge Phänomene bereits von M a g e n d i e, v. B e h - r i n g, u.a. beobachtet, ohne daß ihnen eine endgültige Deutung gelang.

Erst P o r t i e r und R i c h e t legten ihre tödlichen anaphylaktischen Schocks nach der Richtung hin an, daß ein Eiweißextrakt in nicht toxischen, aber sensibilisierenden Konzentrationen hochgradig toxisch in seinen pathophysiologischen Auswirkungen bei der Zweitverabreichung werden kann und daß der normale Schutz (Phylaxis) gegenüber diesem Gift verloren geht.

Seit diesen tierexperimentellen Beobachtungen wurden zahlreiche neue Erkenntnisse auch für allergische Phänomene beim Menschen gewonnen; es sei nur an die pharmakologischen Arbeiten über Anaphylaktogene, über die Anti-Anaphylaxie, die Desensibilisierung und an die quantitativen Antigen-Stickstoffverbindungen erinnert.

Ehe die zur Bestimmung zirkulierender, gegen ein Medikament oder ein körperfremdes Protein gerichteter Antikörper in dieser Arbeit angewandte passive cutane Anaphylaxie in ihren serologischen Grundlagen besprochen

wird, sollten kurz die anderen zunächst tierexperimentell untersuchten Anaphylaktieformen charakterisiert werden.

a. Die aktive Anaphylaxie

Der klassisch gewordene Anaphylaxieversuch am Meerschweinchen wurde zunächst mit artfremdem Eiweiß durchgeführt; er läuft in drei Stadien ab:

1. Die aktive Sensibilisierung.
2. Das Inkubationsstadium.
3. Der Nachweis des anaphylaktischen Zustandes.

Die Sensibilisierung erfolgt primär als parenterale Zufuhr artfremder Eiweißsubstanzen, deren anaphylaktogene Fähigkeiten bekannt waren oder erst festgestellt wurden. Die einigermaßen eindeutigen quantitativen und qualitativen Beurteilungsverhältnisse sind naturgemäß bei Übertragung dieser Versuchsanordnung auf den Menschen aus nahe liegenden Gründen nicht immer durchzuführen. Dadurch ist es schwer, Beziehungen der experimentellen Anaphylaxie zu allergischen Krankheiten herzustellen. Nach einem geeigneten, klinisch latenten Zwischenraum, beim Meerschweinchen 14 Tage, erfolgt die Reinjektion des sensibilisierenden Antigens.

Je nach der Eiweißnatur dieses Antigens, der Tierart oder dem Verabreichungsmodus dieser „Erfolgsinjektion“ kann die Allgemeinreaktion als tödlicher anaphylaktischer Schock oder das Verhalten einzelner lebender Organe als „Schockorgane“ beobachtet und quantitativ untersucht werden.

b. Die passive Anaphylaxie

Seit A r t h u s nachgewiesen hatte, daß sich das von P o r t i e r und R i c h e t als Anaphylaxie bezeichnete Phänomen mit artfremdem Serum reproduzieren läßt, war die „ Konjunktur " für passiv anaphylaktische Versuchsanordnungen im Prinzip gegeben.

Tierexperimentelle Untersuchungen haben bereits vor vielen Jahren gezeigt, daß der anaphylaktische Schock nach passiver Sensibilisierung sich von denen aktiver Auslösmechanismen weder in der Art der Symptomatik noch in dem chronologischen Ablauf des Erscheinungsbildes wesentlich unterscheidet. Daß das passiv übertragene agens ein Antikörper sein muß, ergibt sich aus der Tatsache, daß es einem Antigen seine Entstehung verdankt, aus seiner immunologischen Spezifität und aus seiner Anwesenheit im Serum.

Die beim aktiv anaphylaktischen Versuch in der Inkubationszeit erfolgte spezifische Antikörperproduktion wird in der passiven Versuchsanordnung durch die Einverleibung bereits vorhandener Antikörper ersetzt.

Die beiden Anaphylaxieformen zeigen die klinisch-pathologische Auswirkung der im Organismus ablaufenden Antigen-Antikörper-Reaktion; der Organismus übernimmt dabei lediglich die Rolle eines Indikators dieses Reaktionsgeschehens.

Bald wurde erkannt, daß von der als Indikator verwandten

Tierspezies Ausmaß und Intensität dieser Antigen-Antikörper-Reaktion abhängt.

So kommt es bei einigen Tierarten, z.B. der Ratte, überhaupt nicht oder nur inkonstant zum Intensitätsmaximum dieser passiven Anaphylaxie, zum anaphylaktischen Tod in typischer Symptomatik, während bei anderen Tierspezies (Kaninchen, Meerschweinchen und Hund) nur eine Beteiligung einzelner Organe oder Organsysteme beobachtet werden kann.

Die Antigen-Antikörper-Reaktion vermag daher, je nach der artbedingten Sonderheit des Organismus, differente Erscheinungen auszulösen.

Nach D o e r r setzt sich die Versuchsanordnung des typischen passiven anaphylaktischen Versuches aus folgenden Stufen zusammen:

1. Erzeugung eines passiv sensibilisierenden Antiserums durch Immunisierung eines Tieres A mit einem bestimmten Antigen.
2. Übertragung dieses Antigens auf ein Tier B, das derselben oder einer anderen Spezies wie A angehören kann. (Homologe oder heterologe Anaphylaxie)
3. Nachweis der Existenz einer anaphylaktischen Reaktivität bei Tier B durch Zufuhr des zur Immunisierung von Tier A benutzten Antigens.

Wie beim aktiv anaphylaktischen Experiment ist das Vorhandensein des Antikörpers die Voraussetzung der Auslösbarkeit anaphylaktischer Symptome. Die Antikörperproduktion wird in einen anderen Organismus verlegt und der Anti-

körper in dem Versuchstier in fertigem Zustand in einem Antiserum als Vehikel verabreicht.

Da diese passiv zugeführten Antikörper im Organismus relativ rasch abgebaut werden und naturgemäß nicht wieder nachgeliefert werden können, ist die Dauer des passiv anaphylaktischen Zustandes begrenzt.

Sie beträgt bei der heterologen passiven Anaphylaxie des Meerschweinchens ca. 6 Tage (C o c c a` und K o s a - k a i), während sie bei der homologen maximal 66 bis 70 Tage anhält (O t t o, R a t n e r, J a c k s o n und G r u e h l).

Dem gegenüber hat der passive anaphylaktische Versuch vor dem aktiven den Vorteil, daß die Menge des Antikörpers, die dem Versuchstier appliziert wird, technisch-serologisch bestimmt werden kann. Es bleibt allerdings unentschieden, welche Menge des injizierten Antikörpers sich an der Reaktion beteiligt, die für die Auslösung der Symptome maßgebend ist. Aus quantitativen Untersuchungen von K a b a t und B o l d t geht jedoch hervor, daß schon 0,2mg Antiserum unter optimalen Bedingungen genügen können, um ein Meerschweinchen passiv anaphylaktisch zu machen. Im untersuchten Fall wurde Antiovalbuminserum vom Meerschweinchen herangezogen.

K a b a t und L a n d o w fanden, daß die außerordentlich geringen Mengen Immunglobulin, die für eine anaphylaktische Reaktion beim Meerschweinchen erforderlich sind, mit manchen Besonderheiten der aktiven Anaphylaxie dieses Tieres in Zusammenhang stehen; so mit den minima-

len Sensibilisierungsdosen und der Beeinflussungsmöglichkeit in Inkubationszeit durch geringe Überdosierung des Antigens.

c. Die lokale Anaphylaxie des passiv sensibilisierten Tieres.

Injiziert man antikörperhaltiges Immunserum normalen Kaninchen intraperitoneal oder intravenös, entwickeln diese Tiere anaphylaktische Schockreaktionen (N i c o l l e , O p i e), wenn nach einer gewissen Zeit danach das zur Immunisierung verwandte Antigen intracutan appliziert wird. Nach O p i e müssen 48 Stunden nach einer intravenösen Injektion des Antikörpers vergehen, ehe subcutane Antigeninjektionen an geeigneten Hautstellen einen maximalen Effekt aufweisen. O p i e und F u r t h haben die Reihenfolge dieser Versuchsanordnung umgekehrt:

Wird normalen Kaninchen Pferde-Serum subcutan injiziert, und nach 4 bis 7 Stunden Antipferde-Kaninchenserum intravenös appliziert, so weist die vorher gesetzte Depotstelle des Pferdeserums in ihrer Intensität wechselnd lokal-anaphylaktische Veränderungen auf. Eine gelegentlich bei dieser Versuchsanordnung auftretende Allgemeinreaktion wird mit der Resorption einer gewissen Antigenmenge von der Depotstelle aus erklärt, die bereits zirkuliert, wenn das Antiserum einige Zeit später injiziert wird.

In Anlehnung an den P r a u s n i t z - K ü s t n e r - s c h e n Versuch kann aber auch eine bestimmte Hautstelle durch intracutane Antiserum-Injektion sensibilisiert und

kurze Zeit später das spezifische Antigen entweder an der gleichen Stelle intracutan oder auch intravenös eingespritzt werden. Für diese lokale Sensibilisierung reichen nach K a b a t bereits 0,15 mg Antikörpereiweiß zur Erzeugung minimaler Reaktionen aus.

d. Die experimentelle Meerschweinchenanaphylaxie

Die eben genannten anaphylaktischen Versuchsanordnungen konnten durch Verwendung des Meerschweinchens in der Konstanz ihrer Anpassungsfähigkeit verfeinert werden.

S m i t h beobachtete erstmals, daß Meerschweinchen, denen mehrere Wochen vorher ein Gemisch von Diphtherie und antitoxischem Pferdeserum injiziert wurden, nach Verabreichung normalen Pferdeserums starben. Auf Veranlassung von E h r l i c h fand O t t o , der diese Ergebnisse nachprüfte, daß schon die einmalige Injektion von normalem Pferdeserum Meerschweinchen gegen eine in entsprechendem Intervall ausgeführte Re-Injektion derselben Serumart sensibilisiert.

Das von S m i t h beobachtete Phänomen war somit nichts anderes als die 1903 von A r t h u s beschriebene „anaphylaxie générale“ beim Kaninchen; ein Schluß, zu dem auch O t t o , R o s e n a u und andere (A n d e r s o n) gelangten.

Die Versuche haben gezeigt, daß Meerschweinchen auf die Vorbehandlung mit aggressiven Antigenen konstanter als jede andere Tierspezies reagieren. Weitere Vorteile dieser Tierart für experimentell anaphylaktische Versuche bestehen darin, daß kleinste Substanzmengen zur aktiven

Sensibilisierung genügen können. So konnten Meerschweinchen mit einem Gewicht von 200 g bis 300 g durch eine einmalige Subcutaninjektion von 0,00005 mg Ovalbumin (W e l l s), 0,0005 mg Globulin aus cucurbita maxima (W e l l s und O s b o r n e) oder 0,0004 mg E u - globulin aus Pferdeserum (D o e r r und B e r g e r) aktiv sensibilisiert werden.

Derartig niedrige Antigenmengen sind bei anderen Nagetieren (Ratten, Mäusen und Kaninchen) unwirksam.

Spricht man von Antikörpern, so meint man die im Blut zirkulierenden, die mit einer spezifischen Affinität zu ihren Immunglobulinen ausgestattet sind.

Neben der Bildung dieser zirkulierenden Antikörper nach Antigenreiz ist jedoch wohl auch ein zweiter Antikörper an der Entstehung anaphylaktischer Erscheinungsbilder beteiligt. Das Meerschweinchen bildet diesen zweiten Antikörpertyp konstant und nach bereits minimalen Antigenmengen. Diese Tatsachen haben dazu geführt, daß das Meerschweinchen besonders zur Durchführung der passiven cutanen Anaphylaxie geeignet ist.

e. Die passive cutane Anaphylaxie.

Die Antigen-Antikörper-Reaktion kann in der Meerschweinchenhaut zu makroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen führen. Durch eine intravenöse Indigo-Injektion wird das Speicherungsvermögen für Fremdgranula der Kapillarendothelien (granulopexy) sichtbar. Diese experimentell wichtigen Ergebnisse verdanken wir R a m s d e l l , T u f t und O v a r y .

O v a r y hat in seinen Arbeiten darauf hingewiesen, daß das als granulopexy bezeichnete Phänomen der Fremdgranulaspeicherung für die anaphylaktische Sofortreaktion der Meerschweinchenhaut charakteristisch ist. Er fand, daß eine lokale cutane Anaphylaxie des Meerschweinchens durch Antikörperinjektion in die Haut ausgelöst werden kann, wenn spezifische Antigene zusammen mit einem Farbstoff 2 bis 6 Stunden später intravenös gegeben werden und er konnte nachweisen, daß die Reaktionsschwelle bei 0,003 mg Antikörperstickstoff liegt. Bei dieser Versuchsanordnung verwandte er Eialbumin als Antigen, um im Kaninchen ein entsprechendes Anti-Eialbumin zu erzeugen. Eine die Haut sensibilisierende Einheit entsprach 0,003 mg Antikörper-Stickstoff.

In einer weiteren Arbeit von O v a r y wurden folgende Fragen geklärt:

1. Ist eine Sensibilisierung der unversehrten Haut des Tieres durch intravenöse Injektion des Antikörpers möglich und welche Menge Antigen ist unter diesen Bedingungen erforderlich?
2. Ist die umgekehrte passive cutane Anaphylaxie in der Meerschweinchenhaut im Sinne der von O p l e , F u r t h und K e l e t t beschriebenen umgekehrten allgemeinen passiven Anaphylaxie möglich?

Die erste Frage konnte O v a r y eindeutig bejahen. Als Antikörpermenge, die zu starken Hautsensibilisierung-

gen nötig ist, fand er die von 18 mg Kaninchen-Antikörperstickstoff auf 100 g Körpergewicht im Hühnerei-Albumin und Kaninchen-Anti-Hühnerei-Albumin-System.

Die zweite Frage wurde von O v a r y verneint und er bestätigte damit Vermutungen, die D o e r r und R u s s bereits 1909 diskutierten.

1953 veröffentlichte O v a r y zusammen mit B i e r eine Arbeit über die Beziehungen zwischen der passiven cutanen Anaphylaxie und dem Arthusphänomen. Sie wiesen auf den grundlegenden Unterschied hin, der zwischen beiden Erscheinungen besteht.

Andere Autoren, wie R o s e n b e r g , G o r d o n und F i s c h e l, wiesen darauf hin, daß die passive cutane Anaphylaxie nicht nur zum Studium der quantitativen Antigen-Antikörper-Reaktionen geeignet ist, sondern auch zum Studium der zellulären Antikörperproduktion.

Die genannten Autoren pflanzten 1 bis 5 Millionen Meerschweinchenmilzzellen subcutan einer Laboratoriumsratte ein. Als sie nach einer Woche die Zellen wieder entfernten, variierte die Reaktionszeit bei der intravenösen Reinjektion des Antigens von 12 Stunden bis zu 3 Tagen. Der Zeitzwischenraum war kurz, wenn die Reinjektion 7 Tage nach der intracutanen Implantation erfolgte und er war länger, wenn die Reinjektion gleich nach der intracutanen Einpflanzung erfolgte.

Die gleichen Autoren konnten 1958 nachweisen, daß ge-

ringe Antikörpermengen bei einem Überschuß von Antigen Meerschweinchenhaut so zu sensibilisieren vermochten, daß eine passive cutane Anaphylaxie mit intravenös gespritztem Antigen ausgelöst werden kann.

1959 erfaßte O v a r y das reziproke Antigen-Antikörper-Verhältnis bei der experimentellen passiven cutanen Anaphylaxie:

Kleine intravenös gegebene Antigen- und große intracutan verabfolgte Antikörper-Mengen erzeugen beim Meerschweinchen gleich starke Reaktionen in der Haut wie die umgekehrten Verhältnisse.

Als Reaktionssystem benutzte er das Kaninchen-Antieialbumin-Serum und das Kaninchen-Anti-Pneumokokkus Typ III-Serum. Die Sichtbarmachung erfolgte durch intravenöse Injektion von Indigo-Blau mit dem Antigen, bzw. dem Antikörper.

Während die intracutan ablaufende Antigen-Antikörper-Reaktion nach O v a r y und B r i o t durch intravenöse Applikation von Indigo-Blau sichtbar gemacht werden kann, ist es nach unseren Versuchen auch möglich, die Reaktion durch Farbstoffzusatz zum antikörperhaltigen Serum optisch eindrucksvoll zu gestalten.

II. Die Bedeutung der passiven cutanen Anaphylaxie zum Antikörpernachweis gegen Hormone und chemische Verbindungen.

Es gibt auch Arbeiten, die die Bedeutung der passiven cutanen Anaphylaxie zum Nachweis von Antikörpern gegen andere Hormone (Prolactin, Thyreoglobulin, HVL-Hormone und Medikamente) zeigen (C h a s e). 1962 beschrieb J o h n s e n , wie mit Hilfe der passiven cutanen Anaphylaxie Antikörper gegen einfache chemische Allergene (J) nachgewiesen werden konnten.

Mit Hilfe dieser Angaben und unter Berücksichtigung der o.g. Erläuterungen über die passive cutane Anaphylaxie soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob sie zum Nachweis zirkulierender Insulin-Antikörper herangezogen werden kann.

Es wurde eine Versuchsanordnung ausgearbeitet, bei der wir Reaktionsänderungen der gegen Insulin sensibilisierten Meerschweinchenhaut beobachten konnten.

III. E i g e n e V e r s u c h e

a. Durchführung

Das Patientengut stammte aus der Diabetikerzentrale der Ortskrankenkasse Berlin.

Wir verwendeten nur Diabetikerseren von Patienten, die uns alle als schlecht mit Insulin einstellbar genannt worden waren.

Im wesentlichen haben wir uns der von O v a r y beschriebenen Versuchsanordnungen bedient, die er bei seinen Arbeiten über die Reziprozität von Antigen und Antikörper angewandt hatte.

Parallelgehend mit unseren Untersuchungen wurden zirkulierende Antikörper in den Diabetikerseren mit der Haemagglutinationsreaktion nach B o y d e n, dem Partikeltest nach K l o s t e r k ö t t e r und N o l t e, der zweidimensionalen Immunodiffusion nach O u c h t e r l o n y und der papierchromatographischen Darstellung nach S t ö s s nachzuweisen versucht.

Wir untersuchten Seren von 20 Patienten.

Davon waren 10 weiblichen und 10 männlichen Geschlechtes.

Das Durchschnittsalter betrug 40 Jahre. Der älteste Patient war 70 Jahre, der jüngste 17 Jahre alt.

Aus den graphischen Darstellungen im Anhang sind die Ergebnisse der positiven wie der negativen Fälle zu ersehen.

Im folgenden Kapitel IV. werden jeweils 6 charakteristische Diabetes-Anamnesen mit der entsprechenden Insulinbedürftigkeit dargestellt.

b. Technik

Das zur Untersuchung fraglich antikörperhaltige Serum gewannen wir fünf Minuten nach der morgendlichen Insulininjektion. Es war uns bekannt, daß fünf Minuten nach der Injektion der Antikörpertiter am höchsten ist. (O u c h t e r l o n y).

Von diesen Seren stellten wir eine Verdünnungsreihe von 1:0 bis 1:128 her, um die Ausdehnung und Intensität der Hautreaktionen bei verschiedenen Antikörperkonzentrationen zu beobachten.

Zur besseren Sichtbarmachung der geweblichen Reaktionen setzten wir den Serumverdünnungen je einen Tropfen Eosin zu.

Als Versuchstiere dienten uns 300 g bis 500 g schwere Meerschweinchen, deren Rückenfell mit einer elektrischen Schere vor der Intracutaninjektion geschoren wurde.

Zur Vermeidung spezifischer Hautreaktionen wurde auf Enthaarungsmittel und Naßrasur verzichtet. Zur intracutanen Injektion wurden 18er Kanülen verwandt.

Für jedes zu untersuchende Serum verwandten wir drei Meerschweinchen, bei jedem wurden acht Quaddeln mit den Serumverdünnungen 1 : 0 bis 1 : 128 gesetzt.

Nach O v a r y placierten wir diese beiderseits der Wirbelsäule, da hier das Diffusionsvermögen der applizierten Flüssigkeit in die Umgebung auf Grund der Gewebsstruktur geringer ist und der Histamingehalt der Bauchhaut nach O v a r y höher ist.

Es wurden 0,15 ml der entsprechenden Verdünnungen des zu untersuchenden Serums appliziert.

Die Auswahl der Zuckerkranken erfolgte nach den auf Seite 15 angegebenen Richtlinien.

Dreißig Minuten nach intracutaner Applikation der antikörperhaltigen Serumverdünnungen wurden 60 E des speziesspezifischen Rind-, Kalb- oder Schweineinsulins intraperitoneal appliziert.

Die Größenbeurteilung der Quaddeln erfolgte mit einem Stechzirkel, wobei die Durchmesser in mm vor und nach der intraperitonealen Injektion beurteilt wurden.

Eine Dickenveränderung der einzel-gesetzten Quaddeln wurde wegen fehlerhafter Beurteilungsmöglichkeit nicht registriert.

Die kurvenmäßige Auswertung erfolgte in einem Koordinatensystem, wobei die Quaddeldurchmesser auf der Ordinate vermerkt wurden; die Ablesungszeit wurde auf die Abzisse aufgetragen.

Diese Kurvenbilder lassen die Veränderung der Quaddelgrößen nach 10, 15 und 20 Minuten überblicken.

Rein technisch waren bei dieser Versuchsanordnung eine Reihe von Schwierigkeiten zu bewältigen:

1. Es gelang nicht immer, die ganze Flüssigkeitsmenge als Intracutandepot anzulegen.
2. Gelegentlich traten Schwierigkeiten auf, diese Flüssigkeitsdepots rein intracutan zu applizieren.
3. Je nach den anatomischen Verhältnissen der Rückenhaut war ab und zu ein unterschiedliches Ausbreitungsvermögen der intracutan gespritzten Flüssigkeitsmenge festzustellen.

IV. Ausgewählte Kasuistik insulinbedürftiger Diabetiker.

Aus den bereits genannten Versuchsreihen werden je zwei repräsentative Verlaufsbilder bei Diabetikern mit steigendem, schwankendem und gleichbleibendem Insulinbedarf ausgewählt.

A. Diabetes mit steigendem Insulinbedarf.

a. Protokoll-Nr. 152

Toni G., 60 Jahre

Feststellung des Diabetes 1949

anfänglicher Insulinbedarf 20 E / die

heutiger Insulinbedarf 160 E / die

graphische Darstellung des steigenden Insulinbedarfs auf Seite 19.

Untersuchung auf Antikörper mit der passiven cutanen Anaphylaxie November 1964

Ergebnis: zirkulierende Antikörper gegen Rinderinsulin.

b. Protokoll-Nr. 166

Erwin J., 45 Jahre

Feststellung des Diabetes 1953

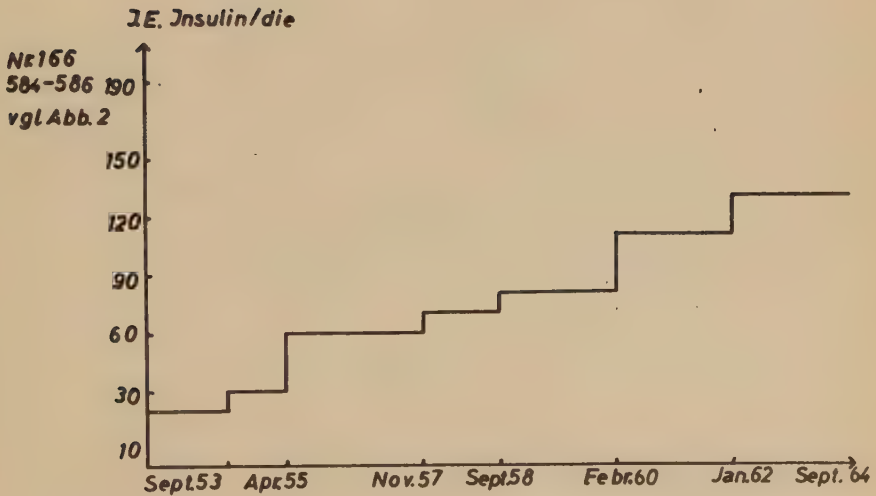
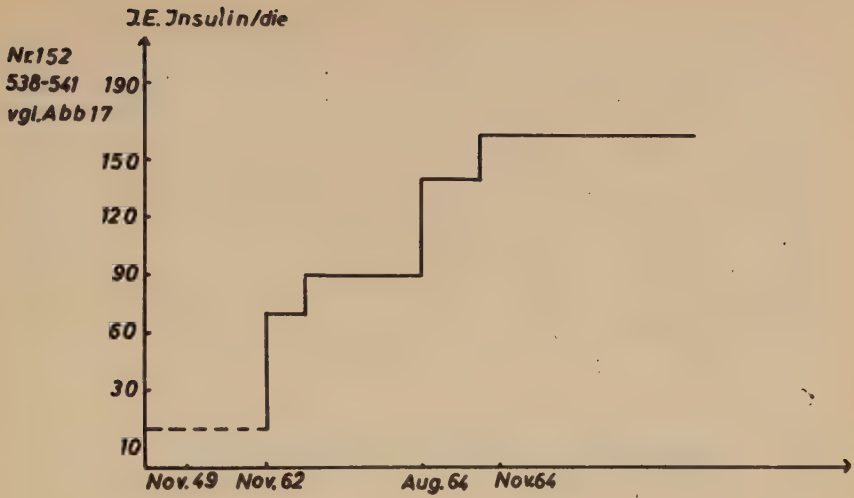
anfänglicher Insulinbedarf 15 E / die

heutiger Insulinbedarf 95 E / die

graphische Darstellung des steigenden Insulinbedarfs auf Seite 19.

Untersuchung auf Antikörper mit der passiven cutanen Anaphylaxie September 1964

Ergebnis: zirkulierende AK gegen Rinderinsulin.



Steigender Insulinbedarf zweier Diabetiker mit nachweisbaren Antikörpern.

B. Diabetes mit schwankendem Insulinbedarf.

a. Protokoll-Nr. 148

Volker B., 22 Jahre

Feststellung des Diabetes 1963

anfänglicher Insulinbedarf 70 E / die

heutiger Insulinbedarf 45 E / die

graphische Darstellung des schwankenden Insulin-
bedarfs auf Seite 21.Untersuchung auf Antikörper mit der passiven
cutanen Anaphylaxie November 1964Ergebnis: keine Antikörper nachweisbar.

b. Protokoll-Nr. 153

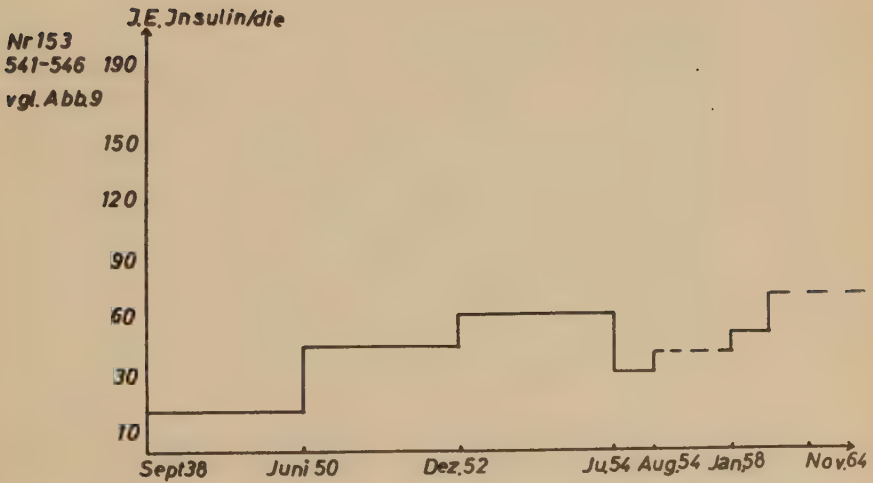
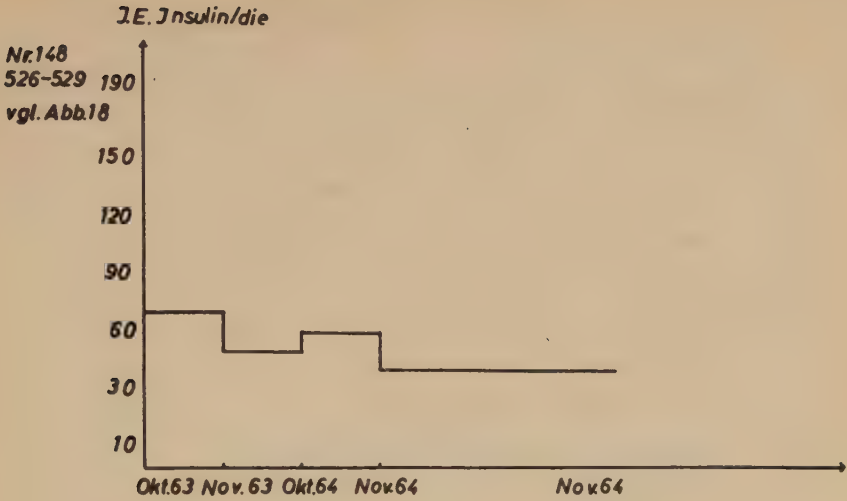
Hermann Sch., 45 Jahre

Feststellung des Diabetes 1938

anfänglicher Insulinbedarf 20 E / die

heutiger Insulinbedarf 20 E / die

graphische Darstellung des schwankenden Insulin-
bedarfs auf Seite 21.Untersuchung auf Antikörper mit der passiven
cutanen Anaphylaxie November 1964Ergebnis: keine Antikörper nachweisbar.



Schwankender Insulinbedarf zweier Diabetiker ohne nachweisbare Antikörper.

C. Diabetes mit mehrjährig gleichbleibendem Insulin-
bedarf.

a. Protokoll - Nr. 156

Rainer U., 21 Jahre

Feststellung des Diabetes 1953

anfänglicher Insulinbedarf 30 E / die

heutiger Insulinbedarf 155 E / die

graphische Darstellung des mehrjährig gleich-
bleibenden Insulinbedarfs: Seite 23

Untersuchung auf Antikörper mit der passiven
cutanen Anaphylaxie November 1964

Ergebnis: zirkulierende Antikörper gegen Rin-
der- und Schweineinsulin.

b. Protokoll - Nr. 151

Karl J., 45 Jahre

Feststellung des Diabetes 1954

anfänglicher Insulinbedarf 30 E / die

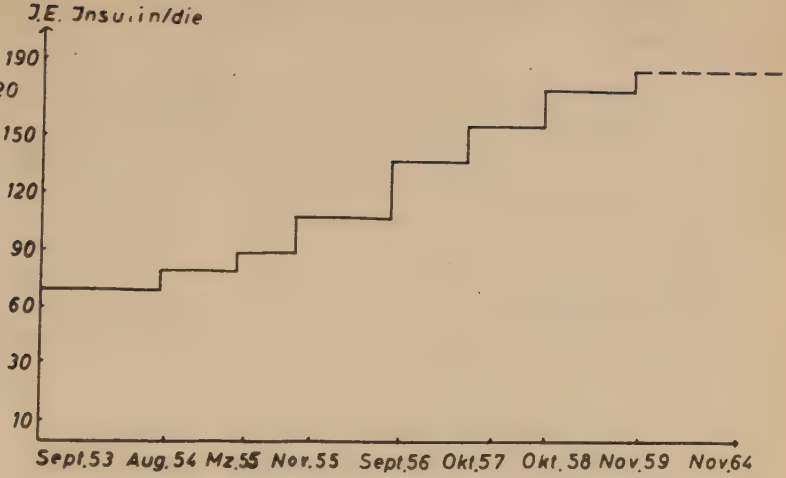
heutiger Insulinbedarf 158 E / die

graphische Darstellung des mehrjährig gleich-
bleibenden Insulinbedarfs: Seite 23

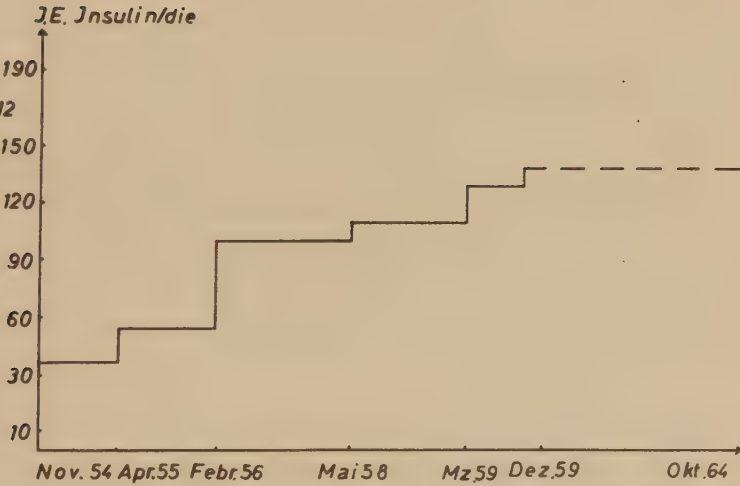
Untersuchung auf Antikörper mit der passiven
cutanen Anaphylaxie Oktober 1964

Ergebnis: zirkulierende Antikörper vorwiegend
gegen Schweineinsulin.

Nr. 156
554-557
vgl. Abb. 20



Nr. 151
535-537
vgl. Abb. 12



Gleichbleibender Insulinbedarf zweier Diabetiker über mehrere Jahre.

V. E r g e b n i s s e .

Die Kurven der Abbildungen 1 - 20 zeigen den unterschiedlichen Ausfall der Hautreaktionen auf den mit Insulin behandelten Tieren, die in den intracutanen Quaddeln das gleiche Patienten-Serum enthielten.

Die Durchmesserzunahme der gesetzten Quaddeln ist ein Hinweis, daß im Flüssigkeitsdepot eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat und die dadurch ausgelöste Gefäßreaktion abgelaufen ist.

Die Zunahme des Durchmessers einer Quaddel bei einem Tier, dem Schweineinsulin intraperitoneal eingespritzt wurde, gegenüber dem Ausbleiben einer Reaktion bei dem Tier, dem Rinderinsulin gespritzt wurde, bedeutet, daß hier Antikörper gegen Schweineinsulin vorliegen müssen. Bei Tieren, deren Quaddeln auch nach der Insulininjektion langsam resorbiert wurden, ist das Vorhandensein von Antikörpern gegen das entsprechende Insulin auszuschließen. Hier liegt dem schwer einzustellenden Diabetes eine andere Genese zugrunde.
(Versuche Nr. 148, 153, 158, 160.)

Eine quantitative Aussage ist bei der technisch nicht ganz einfachen Meßtechnik nur schwer möglich.

Qualitativ kann man allerdings die Aussage machen, daß das untersuchte Diabetikerserum mit großer Wahrchein-

lichkeit Antikörper gegen speziesspezifisches Insulin enthielt.

In dieser Ansicht wurden wir dadurch bestärkt, zumal die hier beschriebenen Ergebnisse mit den erwähnten serologischen Untersuchungsmethoden in 80 % der Fälle übereinstimmten.

Aus den graphischen Abbildungen ergibt sich folgender Überblick:

1. Antikörper gegen Rinderinsulin: Abb. 2, 17
2. Antikörper gegen Kälberinsulin: Abb. 1, 3, 5
3. Antikörper gegen Schweineinsulin: Abb. 8, 12, 13
4. Antikörper gegen alle oder mindestens zwei der benutzten Insuline: Abb. 4, 6, 7, 10, 11, 15, 19, 20
5. Keine Antikörper: Abb. 9, 14, 16, 18

Es sei hier erwähnt, daß mit fallender Konzentration des Antikörperserums nicht unbedingt weniger starke Antigen-Antikörper-Reaktionen einhergingen.

Das gleiche Phänomen wurde auch von anderen Autoren bei den oben erwähnten Nachweismethoden beobachtet. B e r s o n und Y a l o w erklärten dieses Phänomen mit einer Antigen-Antikörper-Kinematik, wobei der Antigen-Antikörper-Komplex bei Überschuß eines der Komponenten dissoziiert.

Bezüglich des Zeitpunktes der Ablesung machten wir folgende Feststellung: Von insgesamt 160 mit anti-

körperhaltigem Serum gesetzten Quaddeln reagierten mit:

Rinderinsulin 82 = 51,2 %

Kälberinsulin 120 = 75 %

Schweineinsulin 59 = 36,8 %

Diese Ergebnisse erinnern an Literaturhinweise , wo auch Schweineinsulin stets die geringste antigene Potenz besitzt.

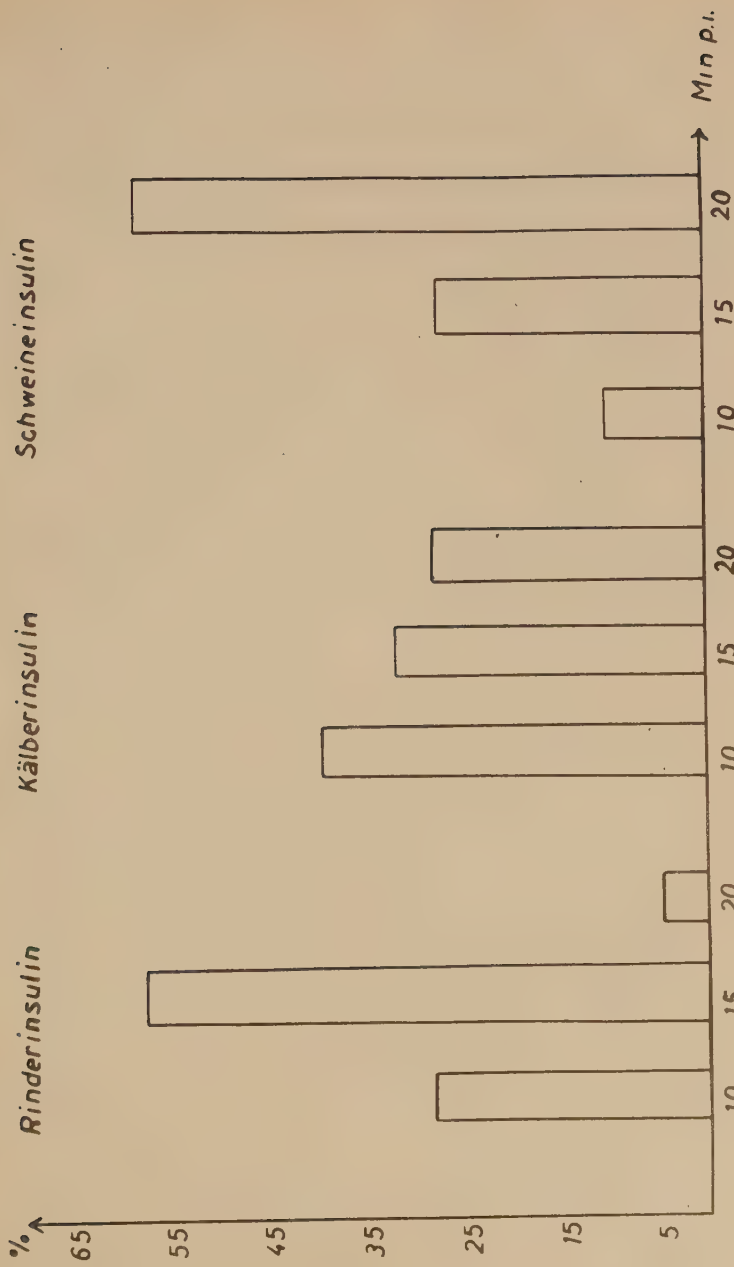
Die optimalen Ablesungszeiten ergeben sich aus der graphischen Darstellung auf Seite 27.

Hautreaktionen mit dem größten Durchmesser waren bei den mit Rinderinsulin behandelten Tieren nach 15 Minuten,

bei den mit Kälberinsulin behandelten Tieren nach 10 Minuten

und den mit Schweineinsulin behandelten Tieren nach 20 Minuten

zu erreichen. (s. auch graphische Darstellung Seite 27.



Cutane Maximalreaktionen in Abhängigkeit von der Zeit.

VI. Diskussion

Die immer mehr verbreitete und im Schrifttum diskutierte Technik der passiven cutanen Anaphylaxie zum Nachweis von Antikörpern gegen chemische Verbindungen, Arzneimittel und Proteohormone wurde bei schlecht einstellbarem Diabetes herangezogen, um die Frage eines eventuell immunbiologisch bedingten Abwehrmechanismus gegen das aus therapeutischen Gründen verabreichte speziesspezifische Insulin einer gewissen Klärung zuzuführen. Dabei wurde die in dieser Arbeit beschriebene Technik mit den auf Seite 15 genannten serologischen Methoden zum Nachweis zirkulierender Insulin-Antikörper verglichen.

VII. Zusammenfassung

1. Die von O v a r y. 1952 ausgetestete passive cutane Anaphylaxie zum Nachweis zirkulierender Antikörper gegen organische und anorganische chemische Verbindungen, Medikamente und Proteohormone kann auch Anwendung bei Insulin-behandelten Diabetikern finden, die zur Rekompensation ihres Stoffwechsels eine inadäquate Insulinmenge benötigen; hier ist vor allem an die immunbiologisch begründete Insulinresistenz gedacht.
2. Eine gewisse Bestätigung dieses eben geäußerten Gedankenganges kann bei gleichzeitiger Durchführung mehrerer serologischer Nachweismethoden zirkulierender Insulin-Antikörper (Haemagglutination, Präzipitation, Immunodiffusion) erbracht werden.
3. Wie die kritischen Ausführungen zur Technik gezeigt haben, sind bei den Tierversuchen eine Reihe von Faktoren zu berücksichtigen, die die Beurteilung oft nicht ganz einfach gestalten, so daß die passive cutane Anaphylaxie zur Beurteilung eines schwer mit Insulin einstellbaren Diabetes mellitus als einzige Methode zur Abwägung einer eventuell immunbiologischen Komponente nicht gewählt werden sollte.

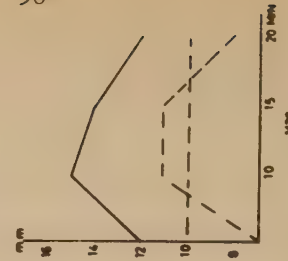
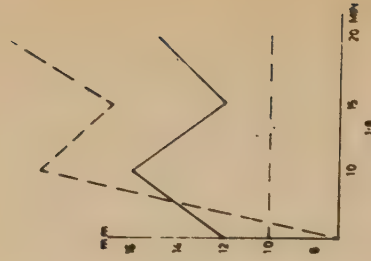
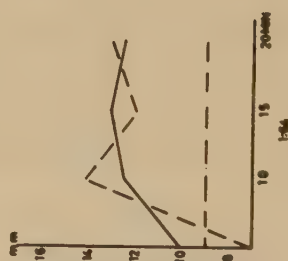
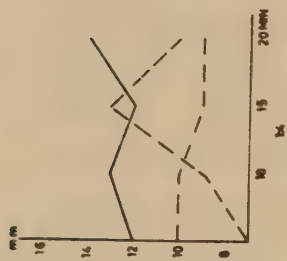
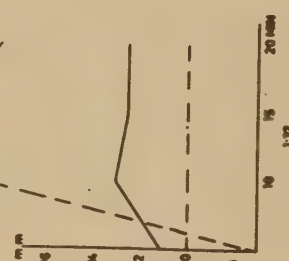
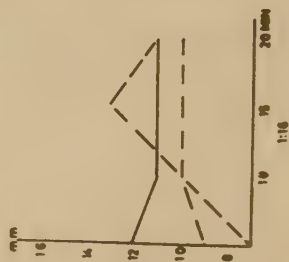
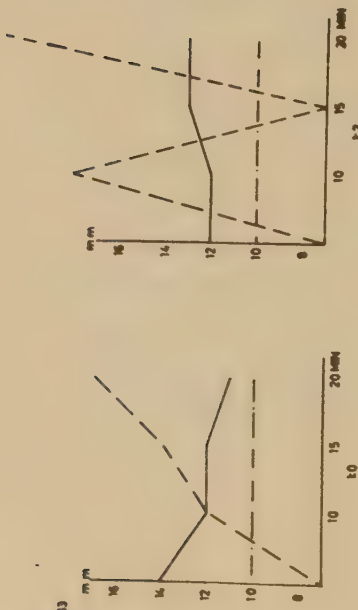
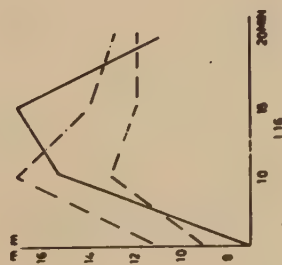
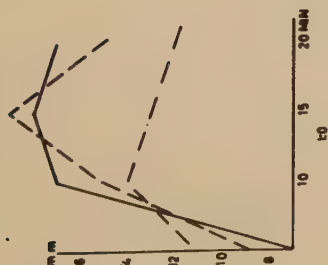
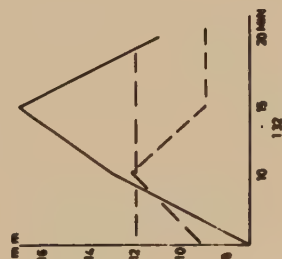
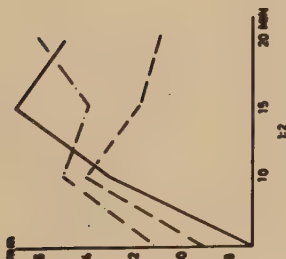
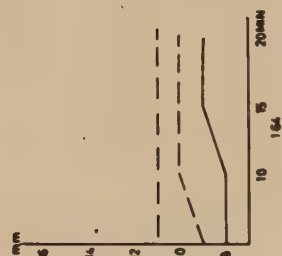
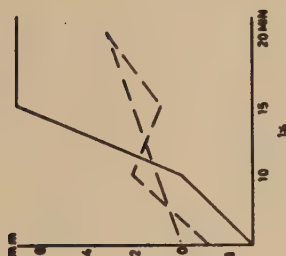
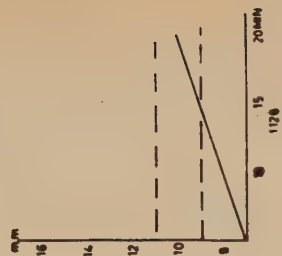
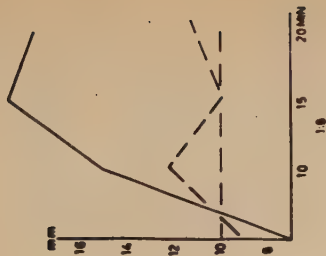
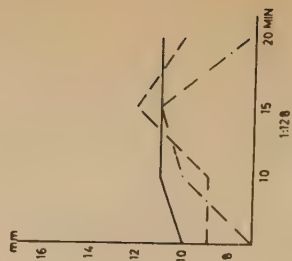
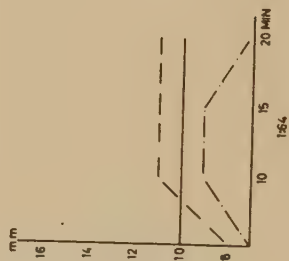
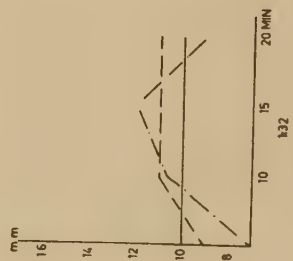
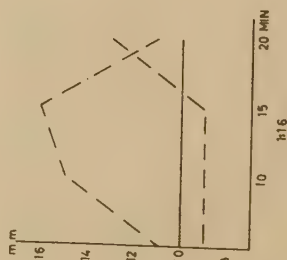
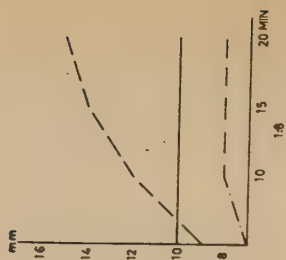
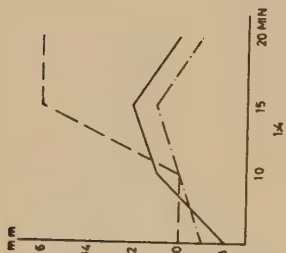
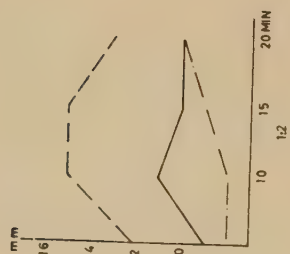
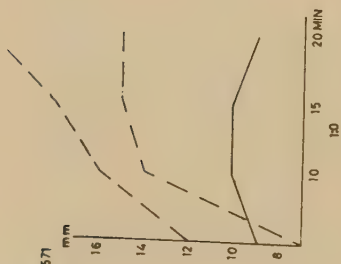
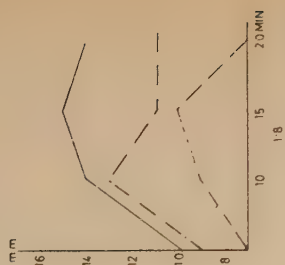
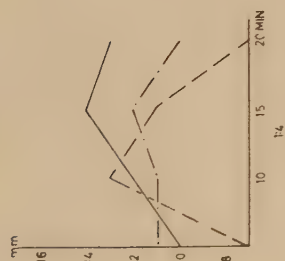
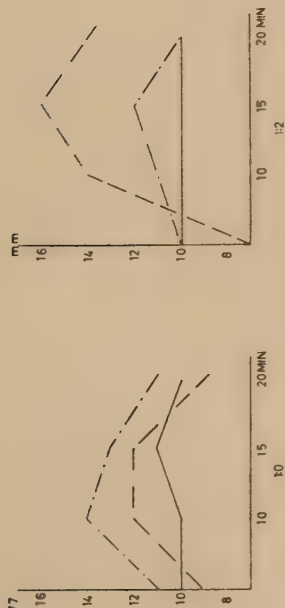


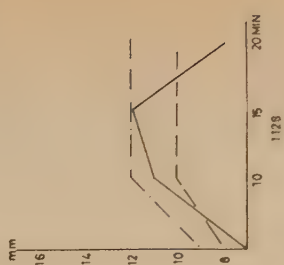
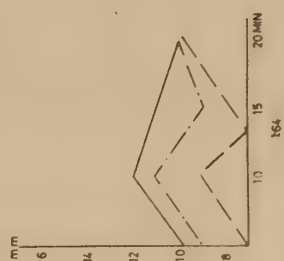
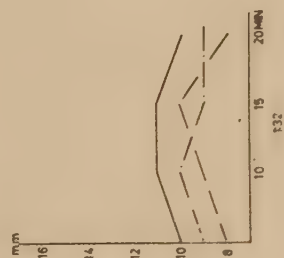
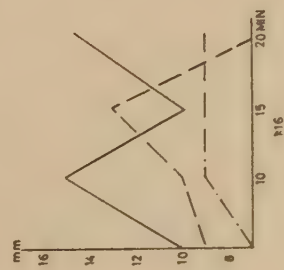
Abb. 1-20: Reaktionsintensität (Quaddeldurchmesser in mm) in Abhängigkeit von der Zeit bei Serumverdünnungen von 1:0 bis 1:128
Rinderinsulin — Schweineinsulin - - - - - Kälberinsulin - - - - -



161/589-577
Abb 3

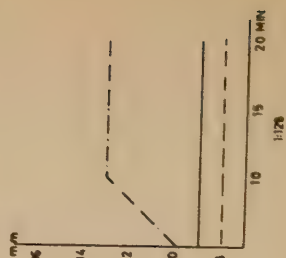
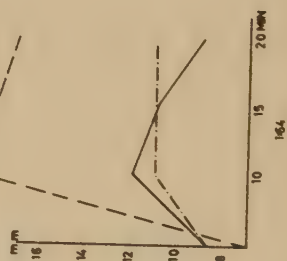
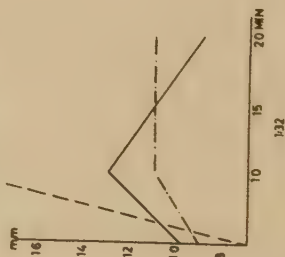
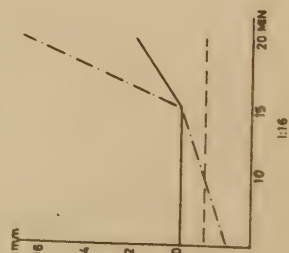
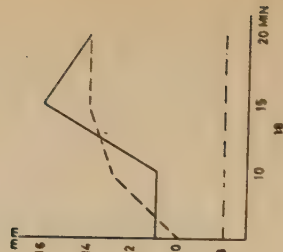
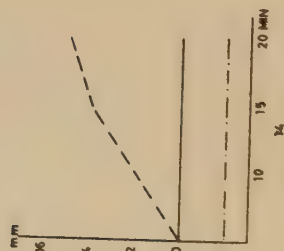
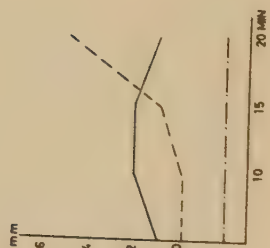
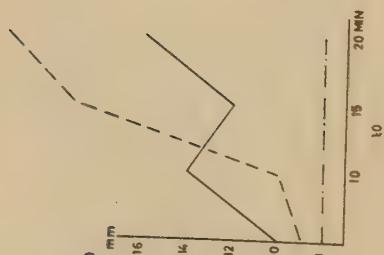


33

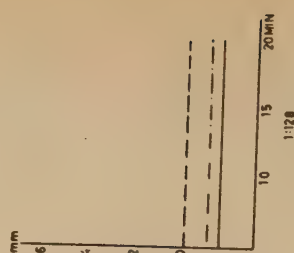
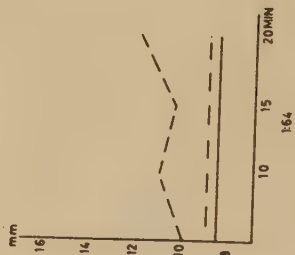
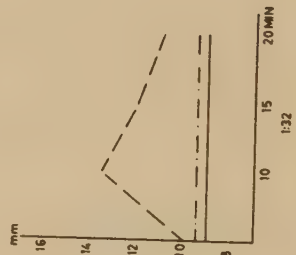
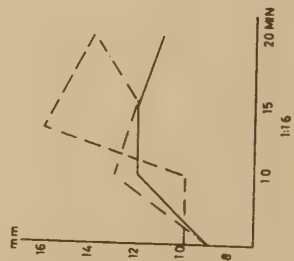
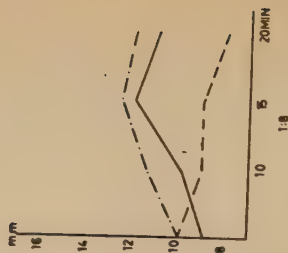
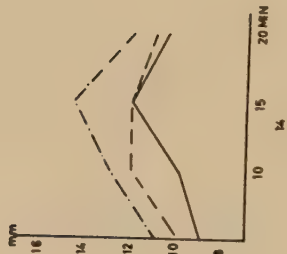
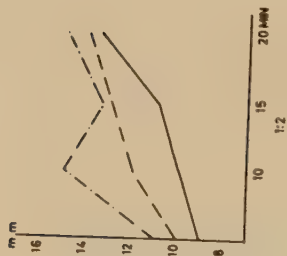
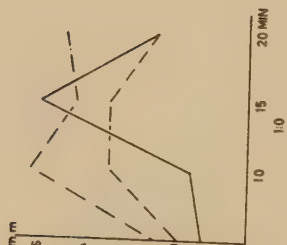


16/587-589

Abb 5

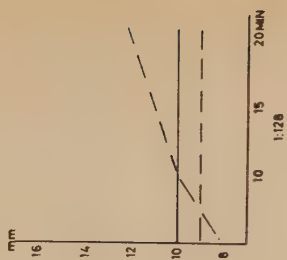
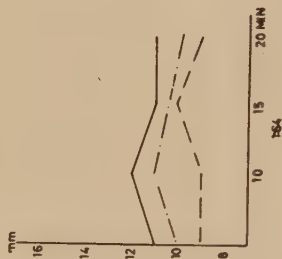
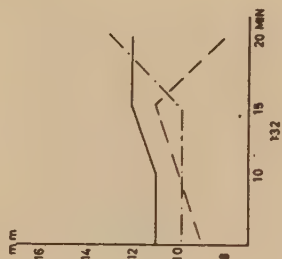
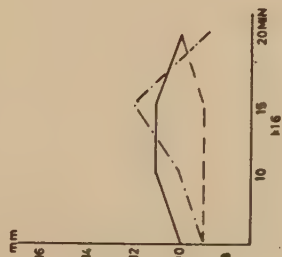
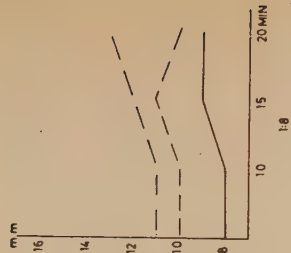
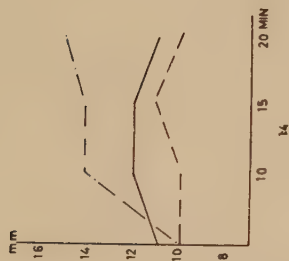
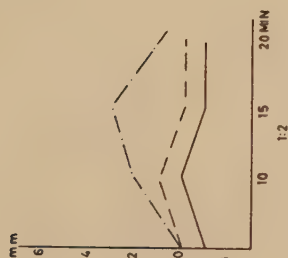
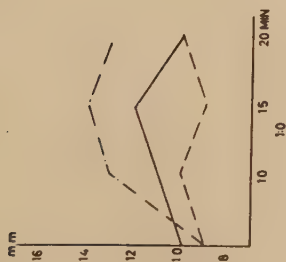






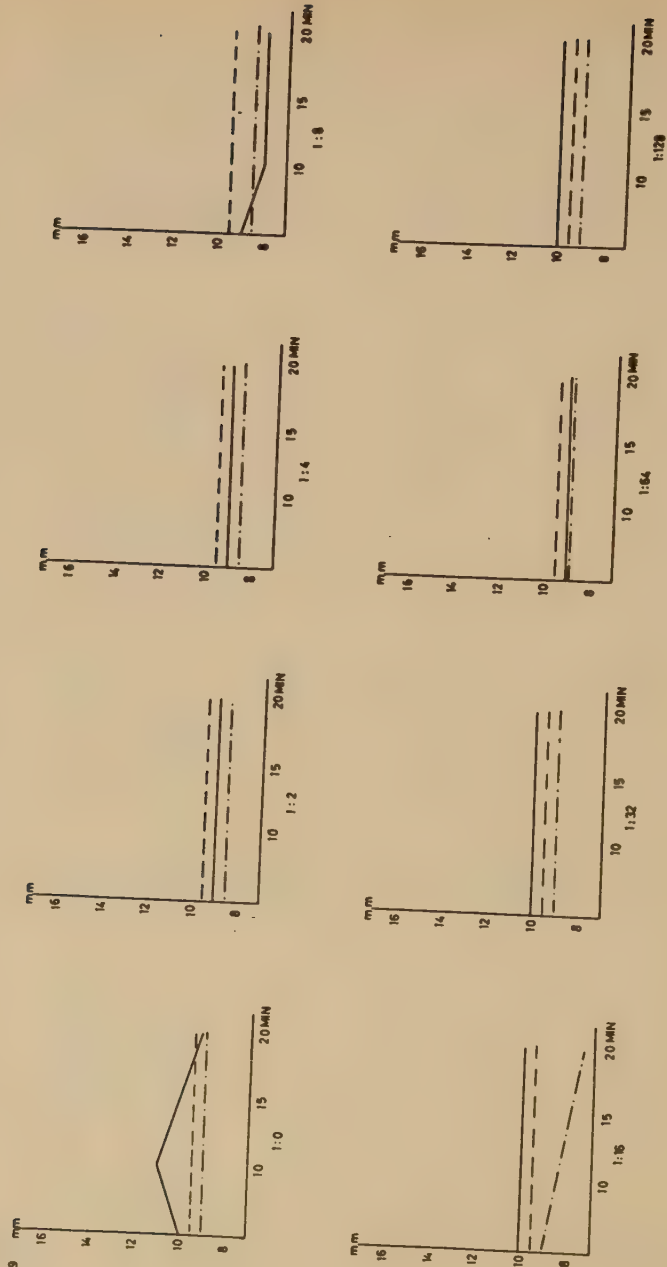
162/572-574

Abb. 8

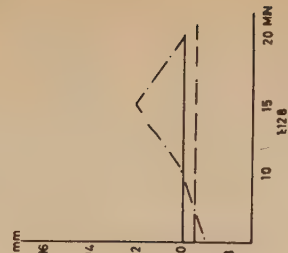
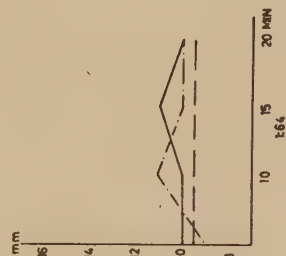
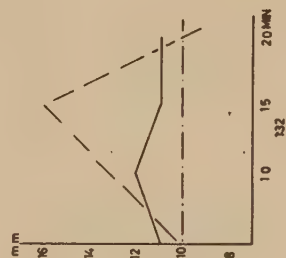
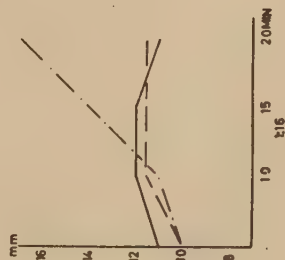
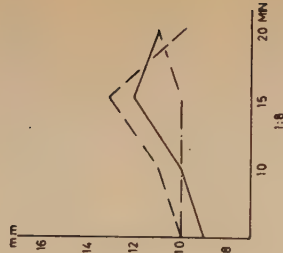
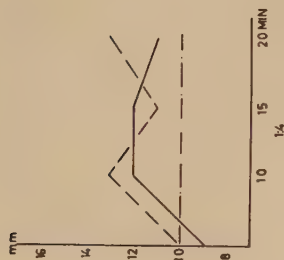
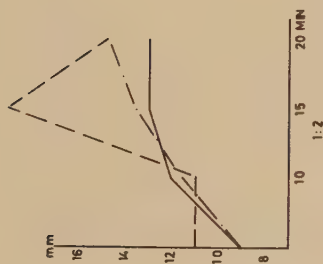
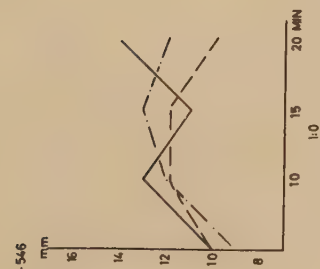


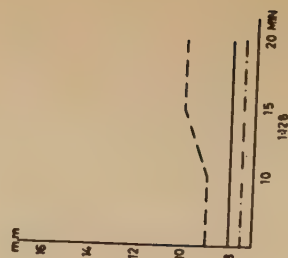
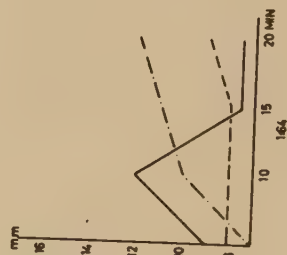
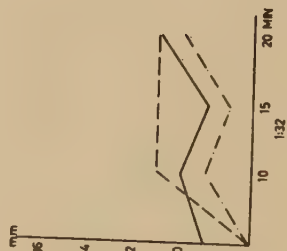
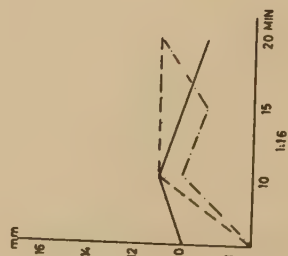
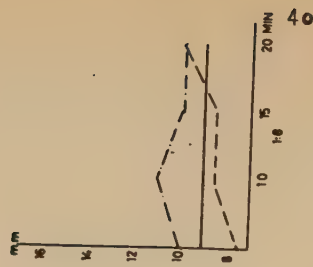
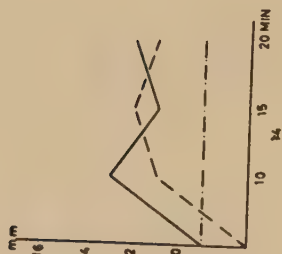
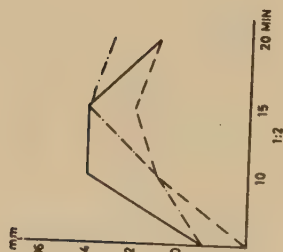
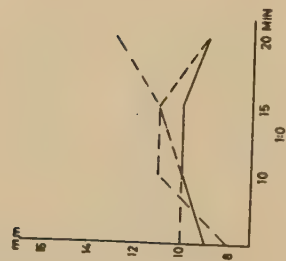
1537541-543

Abb. 9

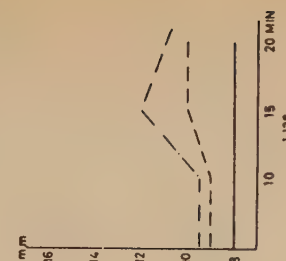
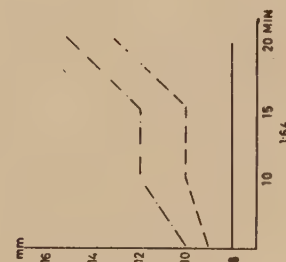
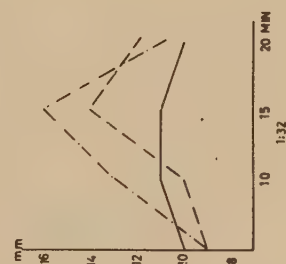
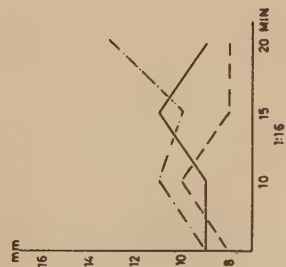
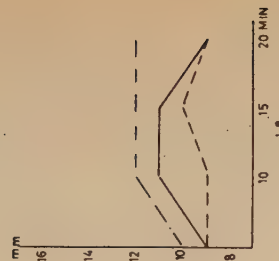
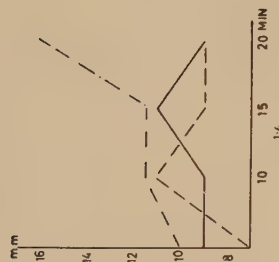
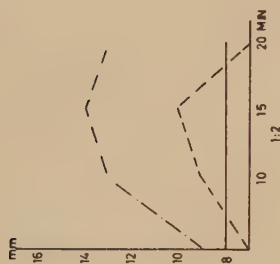
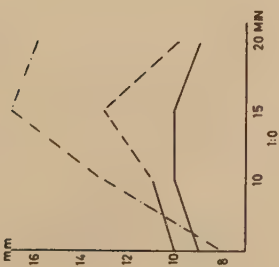


54/544-546
Abb 10 mm

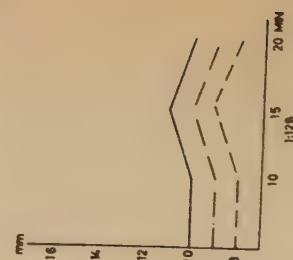
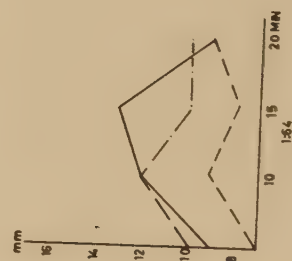
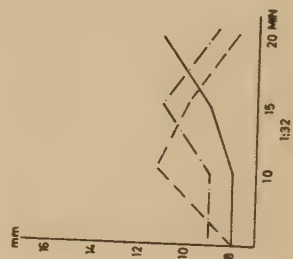
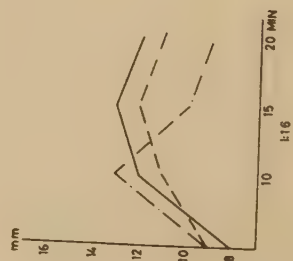
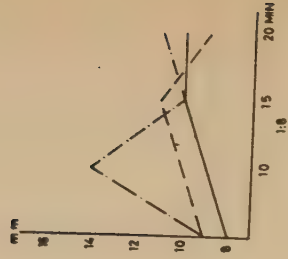
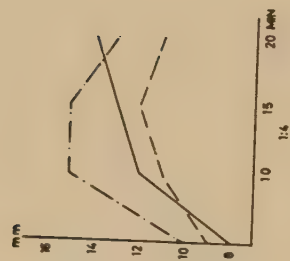
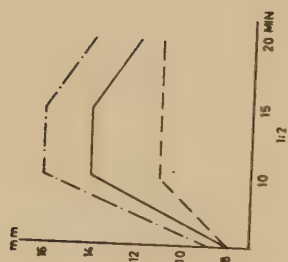
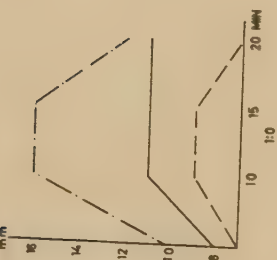




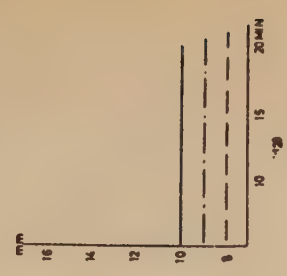
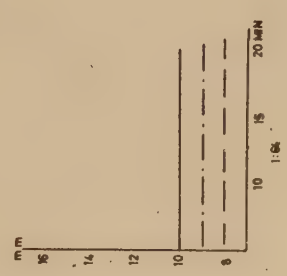
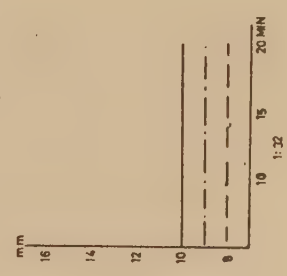
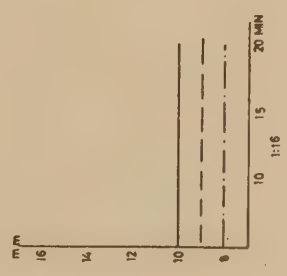
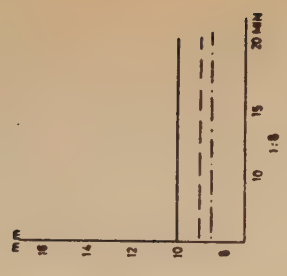
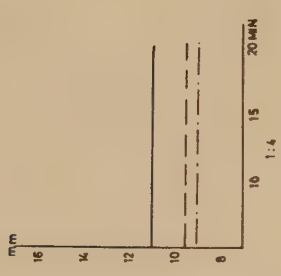
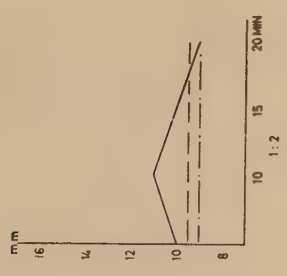
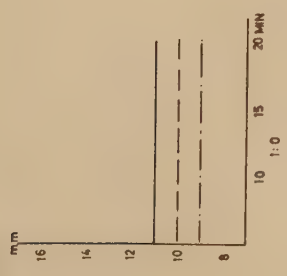
151/535-537
Abb. 12



150/563-565
Abb. 13 mm



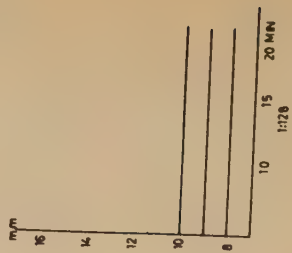
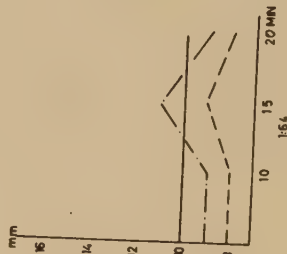
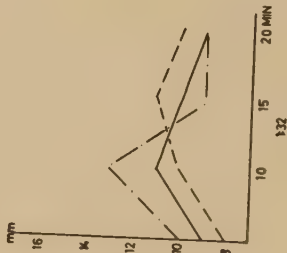
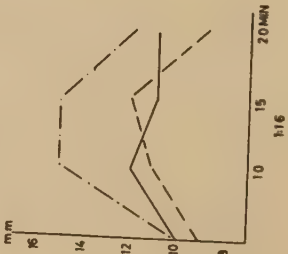
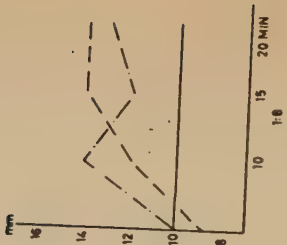
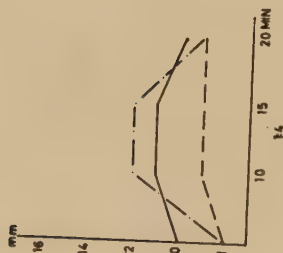
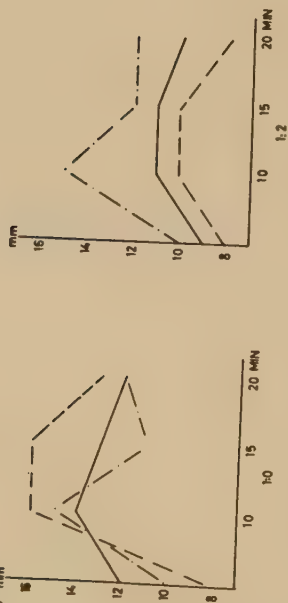
160566-568
Abbl.4



157/542-559

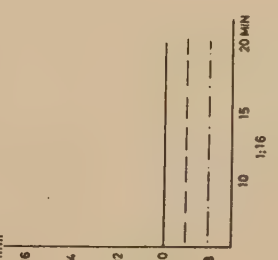
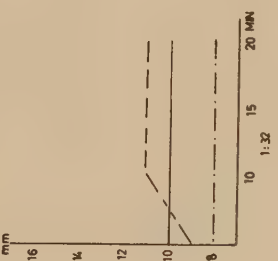
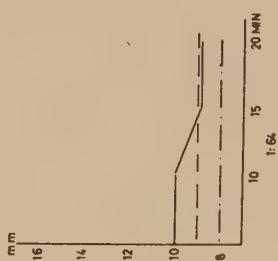
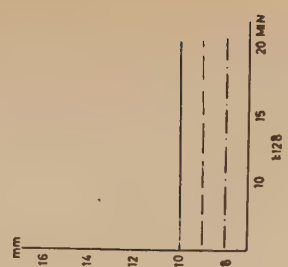
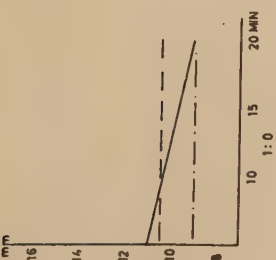
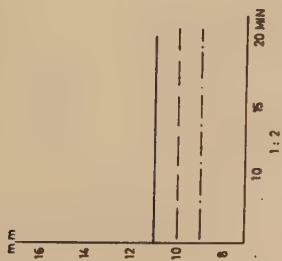
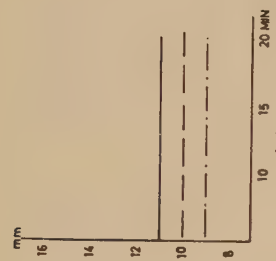
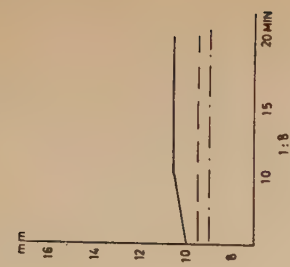
Abb. 15

mm

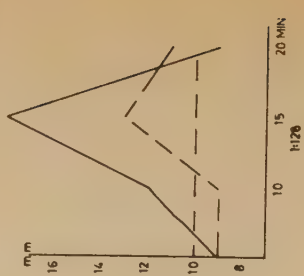
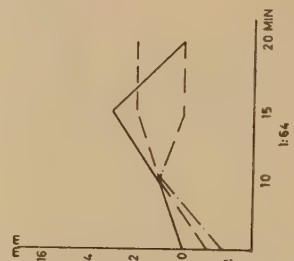
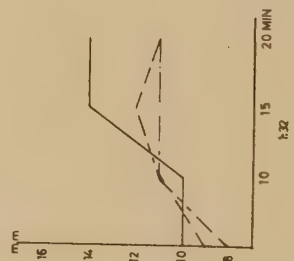
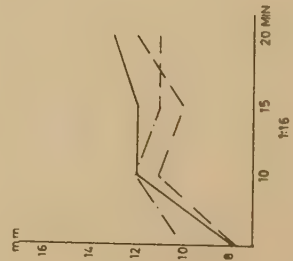
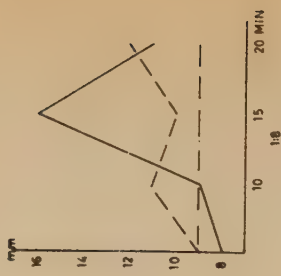
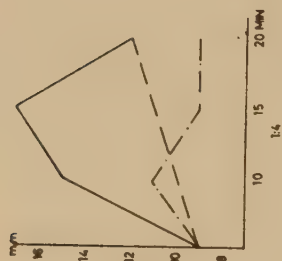
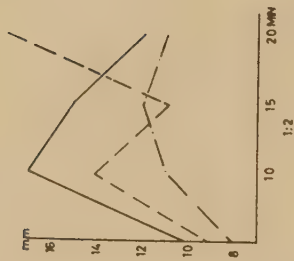
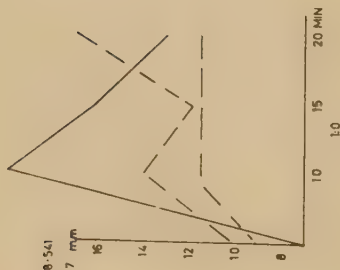


136560-562

Abb. 16 mm

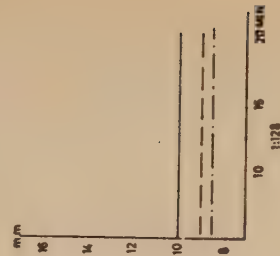
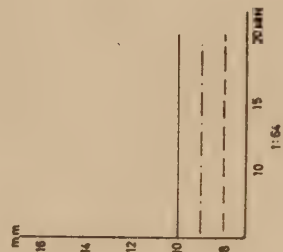
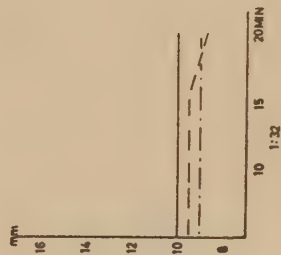
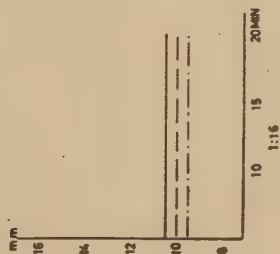
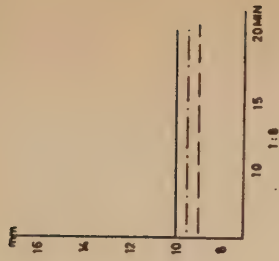
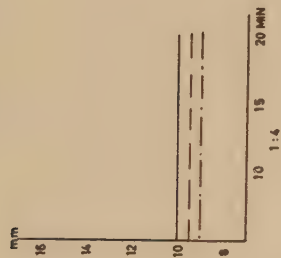
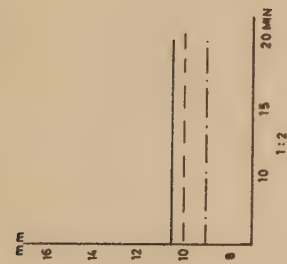


152/528-541
Abb 17



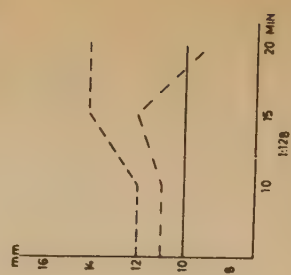
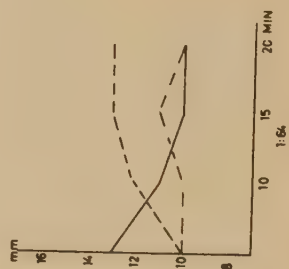
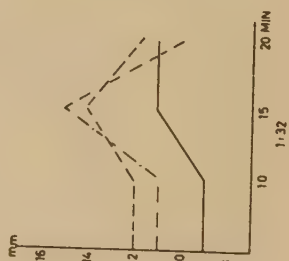
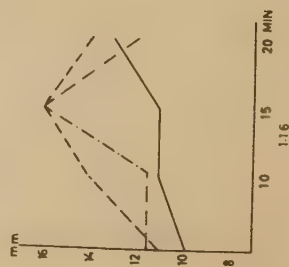
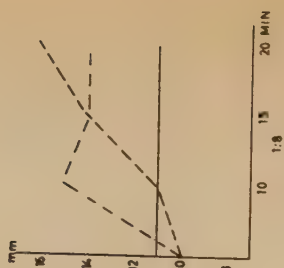
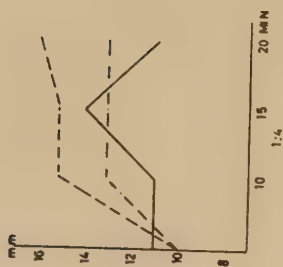
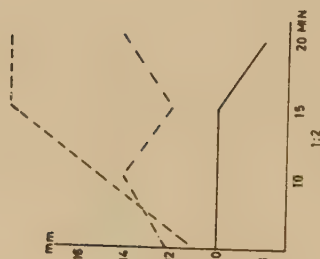
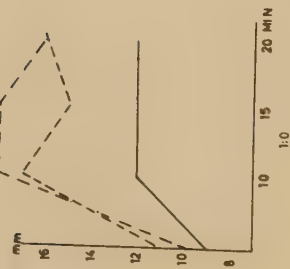
14.8526-529

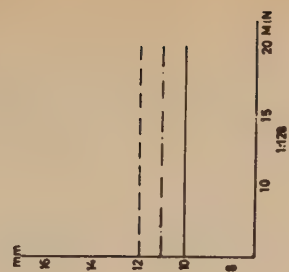
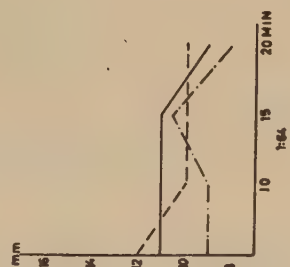
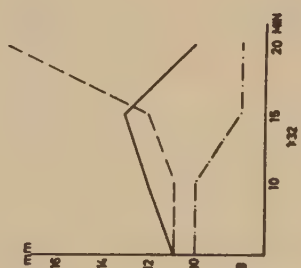
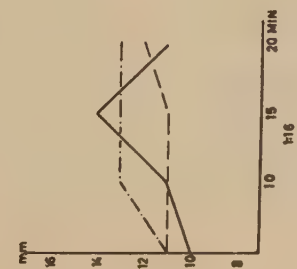
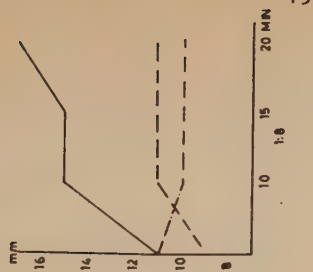
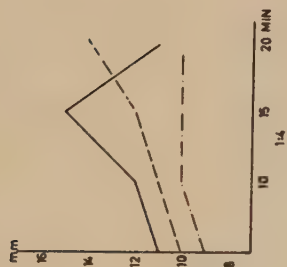
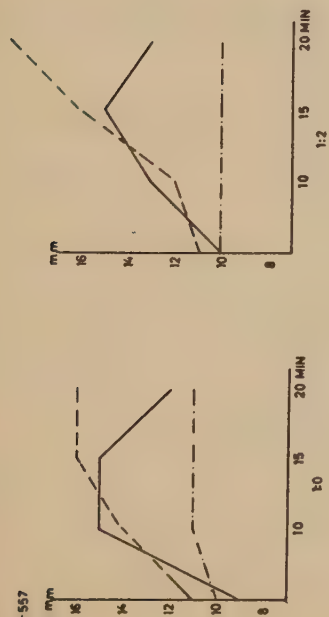
Abb 18



155/550-553

Abb. 19





IX. S c h r i f t t u m

1. Arthus, M. Injections répétées de serum de
cheval chez le lapin
C.r.Soc.Biol. Paris. 55,817,1903
2. Berson, S.A. Quantitative Aspects of the
Yalow, R.S. Reactions between Insulin and
Insulin-Binding Antibodies.
J.clin.Invest.38, 1996, 1959
3. Boyden, S.V. The Absorbtion of Proteins on
Erythrocytes Treated with Tam-
mic Acid and Subsequent Hem-
agglutination by Antiprotein-Sera.
J.exp.Med. 93, 107, 1951.
4. Chase, M.W. Studies on Sensitization of ani-
mals with simple chemical com-
pounds; antibodies inducing
immediate-type skin reactions.
J.exp.Med. 86, 489, 1947
5. Coca, A.F. Studies of Anaphylaxis.
Kosacai, M. J.Immunol. 5, 297, 1920
6. Doerr, R. Die Identität der anaphylak-
Russ, V.K. tisierenden und der toxischen
Substanzen artfremder Sera.
Z.f. Immunf. 2, 109, 1909
7. Doerr, R. Die Immunitätsforschung.
Ergebnisse und Probleme in Ein-
zeldarstellungen.
VI.Band. Die Anaphylaxie.
Seite 60 - 87
Springer-Verlag Wien, 1950
8. Johnsen, C.W. Hypersensitivity to Chemical
Allergens.
Int.Arch.Allergy, 21, 279, 1962
9. Kabat, E.A. Quantitative Studies of Passive
Landow, H. Anaphylaxis in the Guinea-Pig.
J.Immunol. 48, 181, 1944
10. Kabat, E.A. A Quantitative Study of Passiv
Boldt, H. Anaphylaxis in the Guinea-Pig.
J.Immunol. 48, 181, 1944
11. Kabat, E.A. Quantitative Immunochemical
Aspects of some Allergic Re-
actions.
J.Amer.Med.Assoc. 535, 1947

12. Kellett, C.E. On the Production of Reversed Passive Anaphylaxis in the Guinea-Pig.
J.Path.a.Bact. 41, 479, 1935/36
13. Kellett, C.E. The Production of Reversed Passive Anaphylaxis in Man.
J.Path.a.Bact. 43, 503, 1936
14. Klosterkötter, K. Quarzflockungstest bei primär
Nolte, D. chronischer Polyarthritis und anderen Erkrankungen.
Klin.Wschr. 179, 1960
15. Nicolle, M. Contribution à l'étude du phénomène d'Arthus.
Ann.Inst.Past. 21, 128, 1907
16. Opie, E.L. Inflammatory Reaction of the Immune Animal to Antigen and its Reaction to Antibodies.
J.Immunol. 9,231, 1942
17. Opie, E.L. Anaphylactic Shock caused by
Furth, J. Antibodies in Animals sensitized by Antigen-reversed Passive Anaphylaxis.
J.exp.Med. 43, 469, 1926
18. Otto, R. Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit.
Münch.med.Wschr. 54, 1665, 1907
19. Ouchterlony, O. Antigen-Antibody Reactions in Gels.
Arch.kemi 26B, 14, 1948
20. Ovary, Z. Further Research on Granulopexy and increase of permeability of the small vessels.
Boll.Soc.It. di Sper. 26, 566, 1950
21. Ovary, Z. Active local Anaphylaxis in the Guinea-Pig.
Boll.Soc.It. di Sper. 27, 100, 1951
22. Ovary, Z. Active local Anaphylaxis in the Guinea-Pig.
Boll.Soc.It. di Sper. 27, 212, 1951
23. Ovary, Z. New Methods for the biological determination of skinsensitizing Antibody in Serum of Guinea-Pig.
Boll.Soc.It. di Sper. 27, 308, 1951

24. Ovary, Z. Nouvelle methode de Dosage de l'anticorps Anaphylactique et son Rapport avec l'Azote de Anticorps
Ann.Inst.Past. 81, 670, 1951
25. Ovary, Z. Studies in Passive Cutaneous Anaphylaxis of the Guinea-Pig. First int. Congress of Allergists.Zurich, 23.-29.9.51
26. Ovary, Z.
Bier, O.G. Quantitative Studies in Passive Cutaneous Anaphylaxis in the Guinea-Pig and its Relationship to the Arthus-Phenomenon.
J.Immunol. 71, 6, 1953
27. Ovary, Z. Quantitative Studies in Passive Cutaneous Anaphylaxis of the Guinea-Pig.
Int.Arch.Allergy, 3, 162, 1952
28. Ovary, Z. Passive Cutaneous Anaphylaxis in the Guinea-Pig:Degree of Reaction as a Function of the Quantity of Antigen and Antibody.
Int.Arch.Allergy, 14, 18, 1953
29. Ovary, Z. Passive Cutaneous Anaphylaxis in Immunological Methods.
Blackwell Scientific Publication. p259, Oxford 1964
30. Portier, P.
Richet, C.H. Bull.Soc. Biol.p. 170, 1912
31. Ramsdell, S.G. Smoth muscle reaction in serum treated earth worm.
J.Immunol. 13, 385, 1927
32. Ratner, B.
Jackson, H.C.
Gruehl, H.L. Nasal sensitization, nasal anaphylactic shock and respiratory symptoms simulating bronchial asthma, in the Guinea-Pig.
Proc.Soc.exp.Biol.a.Med. 23,17,1927
33. Rosenberg, L.T.
Chandler, M.H.
Gordon, A.S.
Fischel, E.E. Antibody Production by Guinea-Pig Cells; Demonstrated by the Passive Cutaneous Anaphylaxis Reaction,
J. Immunol. 81, 136, 1958

34. Rosenberg, L.T.
Chandler, M.H.
Fischel, E.E. Passive Cutaneous Anaphylaxis
with Antigen-Antibody-Com-
plexes and Additional Antigen.
Proc.Soc.exp.Biol.N.Y.
98, 451, 1958
35. Smith, Th. Degrees of susceptibility to
diphtheria toxin among Guinea-Pig.
Transmission from parents to
offspring.
J.Med.Res. 13, 341, 1905.
36. Stöss, B. Papierchromatische-papierchroma-
tographische Darstellung von
Antigen-Antikörper-Reaktionen.
Zbl.Bakt. I.Abt.Orig.
171, 103, 1957,1958
37. Stöss, B. Darstellung von Antigen-Anti-
körper-Reaktionen.
Zbl.Bakt.I.Abt.Orig.
179, 72, 1960
38. Tuft, L.
Ramsdell, S.G. Antibody studies in serumsick-
ness with special reference to
Prausnitz-Küster reaction.
J.Immunol. 16, 411, 1929
39. Wells, G.H. Studies on the Chemistry of
Anaphylaxis, I.
J.inf.dis. 5, 449, 1908
40. Wells, G.H. Studies on the Chemistry of
Anaphylaxis, II.
J.inf.dis. 6, 506, 1908
41. Wells, G.H.
Osborne, H. The biological Reactions of
the vegetable Proteins.
I.inf.dis. 8, 66, 1911

Herrn Priv. - Doz. Dr. med. H. Michel
danke ich für die Überlassung des Themas,
die Förderung und den vielfachen Rat
bei der Anfertigung der vorliegenden
Dissertation.

X. Lebenslauf:

Am 15. September 1937 wurde ich als Sohn des Reichsbahn-Ingenieurs Helmut Weber und seiner Ehefrau Lina, geb. Schmidt, in Magdeburg geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Lemgo, sowie des Engelbert - Kämpfer - Gymnasiums in Lemgo legte ich im Jahre 1959 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1959 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Marburg / Lahn.

Die ärztliche Vorprüfung bestand ich 1962 an der Universität Mainz.

Das klinische Studium setzte ich an der Freien Universität Berlin fort, wo ich im Februar 1966 das Staatsexamen bestand.

Seit dem 1.3.1966 bin ich als Medizinal-Assistent tätig.

